Cultur und Entwicklungsgeschichte

der

Cladothrix dichotoma Cohn.

Inaugural-Dissertation

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Freiburg in der Schweiz

zur Erlangung der Doctorwürde

vorgelegt von

Carl Höflich

aus München

ACAD
LUGD BAT
BIBL

Separatabdruck aus der »Oesterreichischen Monatsschrift für Thierheilkunde« No. 1 und 2. XXVI. Jahrgang

Wien 1901

Verlag von Moritz Perles.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545312_0055

Geschichtliches.

Im Jahre 1873 beobachtete Cohn[1]) zum ersten Male in einem Glase mit Wasser, in welchem seit etwa 14 Tagen verschiedene Algen faulten, eine Schizomycetenform, die er nachher in ähnlichen Vorkommnissen häufig wieder fand. Es waren farblose, auf der Oberfläche des Wassers schwimmende oder an faulenden Algen festsitzende, sehr dünne, scheinbar ungegliederte, gerade oder stellenweise geschlängelte Fäden mit wiederholter regelmässiger Gabelung und bisweilen trichotomer Verzweigung. Hauptachsen und Gabeläste waren gleich dick, etwa 0·3 μ. Bei Anwendung starker Vergrösserungen erkannte Cohn auch, dass es sich nicht um eine echte „Dichotomie", sondern nur um eine falsche Astbildung handle, die dadurch entstehe, „dass ein Faden in der Mitte sich in eine untere und in eine obere Hälfte durchfurcht; indem beide Hälften am Scheitel fortwachsen, verlängert sich die untere in unmittelbarer Fortsetzung neben der oberen, welche dadurch als scheinbarer Ast an die Seite gedrängt wird. Die X-Form entsteht, wenn die obere Hälfte an beiden Enden sich mehr oder weniger verlängert". Cohn nannte die neue Form Cladothrix und die betreffende Art Cladothrix dichotoma.

Cienkowski[2]) stellte an den Fäden der Pflanze eine Gliederung fest, die erst mit dem Fortschreiten der Fäulniss der bezüglichen Culturaufgüsse deutlich sichtbar wurde. An den einzelnen Gliedern sah er flache oder abgerundete Querwände. Es bilden sich cylindrische, scheiben- oder selbst kugelförmige Glieder, die an den Zweigspitzen sich leicht von einander trennen. Den Inhalt der Cladothrix-Zellen gibt Cienkowski entweder glashell an, mit sparsam eingestreuten Körnchen oder

[1]) Sitzung der botanischen Section der Schlesischen Gesellschaft vom 18. Dezember 1873 (Just, Botanischer Jahresbericht für 1873, p. 64). — Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. I, H. 3, 1875.

[2]) Zur Morphologie der Bacterien, Petersburg 1877.

bei üppiger Nahrung von solchen vollgestopft, die scharf umschrieben und in einer oder zwei alternirenden Reihen angeordnet seien, wodurch manchmal die Membran der Zellen hervorgestülpt werde und dadurch die Oberfläche ein gekerbtes Aussehen erhalte.

Neben der Pseudoverzweigung sah er in seltenen Fällen auch noch eine wahre Verästelung, fest mit dem Hauptstamme verwachsene Zweige.

Die Vermehrung geht nach ihm auf zweierlei Weise vor sich. Die eine und gewöhnlichste Art ist die, dass Endglieder der Zweige sich ablösen oder die ganzen Fäden in einzelne Zellen oder Gliederreihen zerfallen. Die abgelösten Stücke zeigten eine gestreckte, gebogene oder geschlängelte Form und sollen sich in Bündel oder Knäuel verflechten.

Die zweite Art bestehe darin, dass der Inhalt der Fadenglieder durch transversale und schiefe Wände in mehrere „Gonidien“ getheilt werde, die dann in einer oder in zwei alternirenden Reihen oder scheinbar ohne Ordnung in den Gliedern liegen würden. Diese sporenhaltigen Zellenfäden fand er oft zwei- bis dreimal dicker als die gewöhnlichen vegetativen. Die Gonidien selbst treten dann aus der Mutterpflanze oder sie keimen darin direct zu Stäbchen, die nach allen Seiten aus dem Mutterfaden hervorbrechen. Bei der weiteren Entwicklung wachsen sie entweder zu Fäden aus, die einzeln oder bündelweise der Mutterpflanze aufsitzen, oder sie theilen sich in immer kleinere Hälften, so dass zuletzt der Faden einen aus sehr kleinen Stäbchen oder Kügelchen bestehenden Haufen darstellt. Die Cladothrix-Zellen sollen übrigens auch, ohne ihren Inhalt zu theilen, direct zu „Stäbchenverbänden“ auswachsen.

Bei der Bacterienerzeugung soll der Cladothrix dichotoma nach Cienkowski, der sie zu den Algen (Oscillarieen) rechnet, die Hauptrolle zukommen.

Die weitestgehenden Mittheilungen über die Entwicklungsformen der Cladothrix dichotoma hat Zopf[1]) gemacht.

Auf Grund mehrjähriger Beobachtung ist die Cladothrix nach diesem Autor eine der allergemeinsten Pilzformen, die überhaupt existiren. „Was der gemeine Brotschimmel (Penicillium crustaceum) unter den aërophyten Schimmelpilzen, das ist die Clado-

[1]) Morphologie der Spaltpflanzen, Leipzig 1882. — Idem, Spaltpilze 1885.

thrix dichotoma unter den Wasser bewohnenden Pilzformen und man darf sie geradezu als den „Wasserpilz“ par excellence bezeichnen. Er fand sie in allen Gewässern, in welchen organische Körper faulten; häufig kommt sie in Fabrikwässern vor, besonders in Abwässern von Zuckerfabriken, meist im Verein mit Beggiatoa-Arten. Ebenso häufig wie im Süsswasser fand er sie auch im Meer- und Brackwasser. Ihre Cultur gelingt leicht auf langsam absterbenden Fadenalgen, auf Schlamminfusionen und Wurzelaufgüssen, todten Insecten, Fischeiern, Fleischstücken u. s. w. In eisenhaltigem Wasser nimmt der Rasen allmälig gelbliche bis braune Färbung an und bildet auf stagnirenden Gewässern rostfarbige Schleimmassen.

Nach Zopf besteht die Cladothrix im Jugendzustande wie auch andere Spaltpilze nur aus einfachen, festsitzenden Fäden, während die erwachsene Pflanze durch das Auftreten einer eigenthümlichen Zweigbildung etwas ganz Charakteristisches bietet.

Zopf unterscheidet folgende vier Formen dieses Schizomyceten:

1. Mikrokokken- und Stäbchenform: Die Pflanze bildet farblose Mikrokokken, Grösse etwa gleich der von Mikrococcus prodigiosus; Membran von einem zarten Gallerthof umgeben. Durch Streckung wandeln sie sich zuerst in kurze und dann in längere Stäbchen um, die theils Schwärmbewegungen zeigen, theils direct zu langen, gegliederten Fäden auswachsen.

2. Leptothrixform: Fäden bis 1½ mm lang; schwärmen niemals. Die Membran vergallertet und differenzirt sich in zwei Lamellen. Durch Verschmelzung der äusseren Lamelle der Stäbchen des Fadens entstehen gallertartige Scheiden, anfangs zart, im Alter ziemlich dick und resistent. Infolge beständiger Streckung und Theilung der Stäbchen in junge Leptothrixfäden und des hiedurch ausgeübten Druckes erfolgt eine Sprengung der Scheide an der Spitze und die Stäbchen treten einzeln oder zu kurzen Reihen verbunden aus. „Schwärmbewegungen, vermittelt durch besondere cilienartige Organe, zeigten die frei gewordenen Cladothrix-Zellen in keinem Falle.“

Die Fäden dieser Leptothrixform können nach Zopf durch fortgesetzte Theilungen in Kurzstäbchen (Bacterien) und in Kugelzellen (Mikrokokken) zerfallen.

Nach ihm beruht auch die Braunfärbung der gallertartigen Scheiden (Ablagerung von Eisen in denselben) nicht, wie Cohn bezüglich des Brunnenfadens behauptet, auf einer Vegetationsthätigkeit der Zellen, sondern nur auf einem rein mechanischen Vorgange, auf einer Einlagerung der im Wasser gelösten Eisenverbindungen zwischen die Gallerttheile.

Die Leptothrix parasitica Kützing hält Zopf für identisch mit der Leptothrixform der Cladothrix dichotoma.

3. Cladothrixform: Dieselbe geht aus den Leptothrixfäden, sobald diese eine gewisse Länge erreicht haben, durch die Pseudoverzweigung, eine Zweigbildung mit durchaus primitivem Charakter, hervor. Ein beliebiges Stäbchen eines Fadens wächst an dem der Spitze des Fadens zugewandten Ende neben dem Nachbarstäbchen vorbei, die zarte Gallerthülle durchbrechend, durch fortgesetzte Theilung zu einem Faden aus, der durch die Gallerthülle mit dem wirklichen Zweige vereinigt bleibt. Die Pseudozweige können auch an der Basis weiter wachsen und dann mit dem Faden ein X bilden. Wegen dieser Verzweigungsform hält Zopf die Cladothrix dichotoma für die höchst entwickelte Spaltpilzgattung.

Leptothrixfäden, welche sich frühzeitig mit einer dicken Scheide umgeben, gehen nicht zu der höheren, verzweigten Form über, sondern bleiben zeitlebens einfache Fäden oder Zellreihen, weil die Zellchen die Scheide nicht mehr zu durchbrechen vermögen.

Von den Cladothrixpflanzen können sich nach Zopf Zweigstücke ablösen und sofort in Schwärmer übergehen. Aus der Beobachtung eines Strudels an jedem Ende eines Stabes oder Zweigstückes schloss Zopf auf das Vorhandensein einer Cilie an jedem Ende desselben, deren Bildung aber erst im Momente der Ablösung oder unmittelbar nachher erfolgen müsse.

Die Stäbchen eines Zweiges können auch hier, und zwar gleichzeitig oder nicht, durch fortgesetzte Quertheilung und Abrundung oder auch noch durch Theilung in der Richtung der Längsachse schliesslich in Mikrokokken zerfallen, die entweder wie die Stäbchen die Scheide verlassen oder in der Scheide unmittelbar zu Stäbchen und leptothrixartigen Fäden auswachsen.

Zopf schliesst aus seinen Untersuchungen der Cladothrix:

„1. Dass die Mikrokokken der Cladothrix zu bacterium-, resp. bacillusartigen Stäbchen auswachsen, die unter gewissen Verhältnissen leptothrixartige und durch Verzweigung cladothrixartige Fäden bilden; 2. dass die bacillusartigen Stäbchen der Leptothrix- und Cladothrixfäden wiederum in kleinere bacteriumartige Glieder und diese schliesslich in Mikrokokken zerfallen. Der genetische Zusammenhang von Kokken-, Stäbchen-, Leptothrix- und Cladothrixform darf hiernach als vollkommen sichergestellt betrachtet werden."

4. Vibrio-, Spirillum- und Spirochätenartige Formen: Sowohl in leptothrix- als auch cladothrixartigen Individuen können Zweige eine eigenthümliche regelmässige Krümmung zeigen. Es können Vibrio-, Spirillum- und Spirochätenform sowohl an verschiedenen Zweigen als auch an ein und demselben „Spiralzweig" mit allen möglichen Uebergängen vorkommen; auch haarflechtenartige Schleifen (Spirulinenform) hat Zopf beobachtet.

Von diesen spiralig gekrümmten Fäden und Zweigen können sich auch Stücke abgliedern und ebenfalls in den Schwärmzustand übergehen. Die abgelösten Schrauben können auch in zwei Theilschrauben zerknicken, woraus Zopf schloss, dass sich die grösseren Schrauben durch Zweitheilung vermehren. Durch Anwendung von Fuchsinlösung konnte er auch nachweisen, dass die Schwärmschrauben eine Gliederung in Stäbchen oder Mikrokokken zeigen; „schwärmende Schrauben können also in Stäbchen, resp. Mikrokokken gegliedert sein, mit anderen Worten, Schraubenform, Stäbchen- und Mikrokokkenform können in genetischem Zusammenhange stehen". Die längeren Schrauben sind keine einzelligen, sondern mehrzellige Gebilde. Schwärmende und ruhende Schrauben zerbrechen in kleinere Stücke, diese in noch kleinere und so fort, ähnlich wie es bei den Fadenstücken der Fall ist.

(Streptothrix Forsteri soll nach Zopf mit der Cladothrix übereinstimmen und von derselben wenigstens nicht genetisch zu trennen sein.)

Zopf hat endlich auch noch Zooglöabildung bei der Cladothrixform beobachtet und unterscheidet je nach dem Inhalte wieder verschiedene Formen.

1. Mikrokokken-Zooglöa: kommt dadurch zustande, dass die Mikrokokken in den Fäden in loco natali liegen bleiben, innerhalb der zarten Gallertscheide durch Zweitheilung sich vermehren und ihre gallertigen Membranen vereinigen. Zooglöen-

form gemäss des Ursprunges eine gestreckt cylindrische oder spindelförmige. Die Mikrokokken können zu Bacillen oder Leptothrixfäden auswachsen.

2. Bacterium-Zooglöa: stellt dendritische Gallertstöcke mit oft complicirter, unregelmässig oder regelmässig dichotomer Verzweigung dar; Zweige manchmal nach dem Ende zu lappenförmig breit. Die Mikrokokken schwärmen entweder aus oder strecken sich bald zu kleinen, kurzen, bacteriumartigen Stäbchen, die in grosser Menge der Gallerte eingelagert sind. Stäbchen schwärmen auch aus, tummeln sich lustig im Wasser umher, bald vor, bald rückwärts schwimmend, bald mehr in zitternder Bewegung, dann wieder pfeilschnell im Wasser dahinjagend.

3. Bacillus-Zooglöa: ebenfalls baumförmige Colonien wie die vorigen; die Bacterien sind hier nur zu längeren Stäbchen ausgewachsen. Diese Stäbchen theils gerade, theils schwach bogenförmig gekrümmt und zeigen ebenfalls lebhaftes Ausschwärmen.

4. Kurzstäbchen, Langstäbchen, schwachgekrümmte und starkgekrümmte Schrauben in derselben Zooglöa: baumförmig wie die vorige. Alle, sowohl die geraden Stäbchen wie die gekrümmten und spiraligen, gehen in den Schwärmzustand über. Zopf schreibt dann: „Somit steht fest, dass die Spiralenbildung bei Cladothrix auf zweifachem, total verschiedenem Wege vor sich gehen kann, einmal an verzweigten Cladothrixpflanzen, indem deren Zweige sich spiralig krümmen, dann ablösen und in Theilschrauben zerfallen, und zweitens in Zooglöen aus allmälig sich krümmenden Stäbchen.“

5. Zooglöa mit leptothrix-, vibrio- und spirillenartigen Einschlüssen: ebenfalls baumförmig; die bacillenartigen Stäbchen zu längeren oder kürzeren Fäden, gerade oder gekrümmt entwickelt. Alle Formen accommodiren sich genau den Raumverhältnissen; kein Faden durchbricht die Gallertgrenze. Ausschwärmen nicht sicher beobachtet.

6. Cladothrix-Zooglöa: die leptothrixartigen Fäden der vorigen entwickeln sich zur Cladothrixform.

Die Beschreibung der Zooglöaformen schliesst Zopf also:

„Ein Ueberblick über die vorstehenden Resultate lehrt:

1. dass die Zooglöen von Cladothrix alle die wichtigsten Entwicklungsformen enthalten können, die die Pflanze auch sonst producirt. Es gibt hier eine Mikrokokken-, eine Stäbchen- und Spirillen-, eine Leptothrix-, Vibrio-, Cladothrix-Zooglöa;

2. dass unter Umständen gewisse Formen gleichzeitig in derselben Zooglöa vorhanden sein können, z. B. Stäbchenformen, Fadenformen, Spirillenformen;

3. dass die gekrümmten Formen aus den geraden entstehen;

4. dass die kürzeren Zustände, Stäbchen und Spirillen in den Schwärmzustand überzugehen vermögen."

Am Schlusse seiner Arbeit über Cladothrix dichotoma Cohn schreibt Zopf Folgendes:

„Ueberblicken wir den interessanten Entwicklungsgang der Cladothrix dichotoma, so werden wir finden, dass er fast alle bekannten Hauptformen der Spaltpilze in sich schliesst, sich also in ziemlich weiten Grenzen bewegt.

Aus den Mikrokokken der Pflanze gehen bacterium- oder bacillenartige Stäbchen hervor, die zu leptothrixartigen Fäden heranwachsen. Letztere bilden durch Pseudoverzweigung denjenigen Entwicklungszustand des Spaltpilzes, den man bisher ausschliesslich unter der Bezeichnung Cladothrix verstand.

Die längeren Stäbchen, aus denen die Leptothrix- und Cladothrixform besteht, gehen durch Quertheilung wiederum zu kürzeren, bacteriumartigen Stäbchen und endlich zu Mikrokokken zurück.

Von den Fäden und Zweigen können sich mehr oder minder lange Stücke ablösen und in den Schwärmzustand übergehen.

Infolge des eigenthümlichen einseitigen Wachsthums der Membranen können die Zweige der Cladothrix eine mehr oder minder auffallende Schraubenform annehmen. Die Fadendicke dieser Schrauben wechselt; noch auffallender erscheint die Variabilität in Bezug auf Höhe und Durchmesser der Windungen. Durch alle diese Modificationen werden die Schrauben theils vibrionenartig, theils spirillenartig, theils spirochätenartig. Die Uebergänge dieser Formen in einander konnten an denselben Schrauben nachgewiesen werden. Die Schrauben sind bald starr, bald flexil. Sie können sich gleichfalls vom Mutterindividuum ablösen und in den Schwärmzustand übergehen.

Da die Cladothrixschrauben im Princip nur gewöhnliche Cladothrixfäden sind, so ist es nicht zu verwundern, dass sie ihrerseits die nämliche Gliederung in bacillus-, bacterium- und schliesslich mikrokokkenartige Stücke zeigen wie jene.

Die Zooglöa der Cladothrix tritt theils in Form der Zoogloen ramigera, theils in anderer Form auf. Sie kann nach einander alle Entwicklungsformen der Pflanze produciren.

Zuerst sind in ihr nur Mikrokokken vorhanden, dann werden kürzere Stäbchen, dann längere Stäbchen, dann leptothrixartige Fäden und schraubige Formen und endlich cladothrixartige Zweigsysteme gebildet.

Mit Ausnahme der Cladothrixform können alle Zustände ausschwärmen; selbst die kürzeren leptothrixartigen Einschlüsse der Zooglöa nehmen unter gewissen Verhältnissen Bewegung an; nur ist dieselbe mehr eine lebhaft kriechende denn eine Schwärmbewegung, durch Geisseln vermittelt.“

Kurth[1]) streift bei seiner Beschreibung des Bacterium Zopfii auch die von Zopf beschriebene „Kokkenvermehrung“ bei Cladothrix dichotoma. Wie nämlich beim Bacterium Zopfii nach Eintritt der sichtbaren Gliederung der Fäden die Stäbchen sich zur Seite verschieben können und, nachdem sie noch eine Zeitlang gewachsen sind, in Kokken zerfallen, wodurch man dann glauben könnte, dass die Kokken sich auch senkrecht zur Richtung der Scheidewand getheilt hätten, in Wirklichkeit aber gar keine Vermehrung der Kokken stattgefunden hat, so könnte es sich, meint Kurth, in ganz gleicher Weise auch innerhalb der Gallertscheide bei der Cladothrix dichotoma verhalten und es könnten Zustände entstehen, wie sie Zopf in seiner Arbeit über die Spaltpflanzen wiedergibt Fig. 18, bezw. 2, Tafel II.

De Bary[2]) verweist in seinen Vorlesungen über Bacterien bezüglich Cladothrix dichotoma auf Zopf's Monographie und theilt das Wichtigste aus derselben im Auszuge mit. Zum Schlusse schreibt er:

„Nach allen diesen Daten stellt Cladothrix das weitausgehende Beispiel pleomorphen Entwicklungsganges dar.“

Winogradsky[3]) gibt in einer kritischen Besprechung der von Zopf bei Cladothrix dichotoma gefundenen Entwicklungsformen kurz auch Einiges über seine Beobachtungen an. Auch er hat bei Cladothrix dichotoma sehr häufig die Stäbchengonidienabgliederung gesehen, desgleichen ebenfalls manchmal eine deutliche Gliederung der Stäbchen, wenn sie noch in ihrem Fadenverbande sind, in je 4—5 runde Körperchen, welche aus der gemeinsamen Scheide entleert wurden. Im Gegensatz zu Zopf

[1]) Kurth, Bacterium Zopfii, Botanische Zeitung, 1883.

[2]) Vorlesungen über Bacterien, Leipzig 1885.

[3]) Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bacterien, Leipzig 1888, Heft I.

konnte aber Winogradsky diese entleerten „Kokken“ sich nie als solche vermehren sehen.

Die baumförmigen und lappigen Zooglöen Zopf's hat Winogradsky ferner monatelang ebenfalls in seinen Culturen beobachtet, ohne jemals ihre Entstehung aus Cladothrix oder die der Cladothrix aus ihnen nachweisen zu können, und betrachtet sie deshalb als zwei verschiedene, nicht zu Cladothrix gehörende Spaltpilzformen.

Ebenso konnte er die Abgliederung echter Spirillen von den Cladothrixfäden nicht bestätigen. Ueber diesen Punkt schreibt Winogradsky:

„Ein spiralig gewundenes Stück im Verlaufe eines Fadens oder einen vom Faden sich abgliedernden, gekrümmten Stab kann man doch nicht Spirillum nennen; nie haben diese „Cladothrix-Spirillen“ die regelmässigen Windungen und das charakteristische Aussehen echter Spirillen. Nur dann könnte man den genetischen Zusammenhang eines Spirillum mit Cladothrix für bewiesen halten, wenn er einen Cladothrixfaden aus einem echten, nachgewiesenermassen unter Beibehaltung seiner charakteristischen Eigenschaften sich theilenden Spirillum erzogen hätte. Das hatte er (Zopf) aber nicht gethan.“

A. Fischer[1]) hat in seiner Arbeit „Die Plasmolyse der Bacterien“ auch die Cladothrix dichotoma berücksichtigt. Nach seinen Angaben tritt bei dieser Plasmolyse sehr stark und sofort ein bei 5%iger Kochsalzlösung, aber nicht mehr bei ½%iger. Recht kräftig plasmolysirt auch frisches, sterilisirtes, noch nicht erstarrtes Schafblutserum, schwach dagegen Cohn's normale Bacterienflüssigkeit, deren Salzwerth sich auf 0·515% Na Cl bestimmt.

In einer zweiten Arbeit berichtet A. Fischer[2]) zunächst über weitere Untersuchungen der Plasmolyse und deren Rückgang, speciell auch bei Cladothrix dichotoma. Er fand bei dieser, dass dieselbe in schwachen, eben scharfe Plasmolyse hervorrufenden Salzlösungen (1·25% Na Cl, 2·5% KNO_3, 1·25% NH_4Cl und 15% Rohrzucker) bald, gewöhnlich innerhalb 1—2 Stunden, in stärkeren Lösungen (5—10% KNO_3) bereits innerhalb ¼ Stunde wieder zurückgehe. Des Weiteren gibt Fischer

[1]) Die Plasmolyse der Bacterien. Bericht über die Verhandlungen der königl. sächs. Gesellsch. der Wissensch. zu Leipzig, Math.-phys. Cl. 1891.

[2]) Untersuchungen über Bacterien. Jahrb. für wissenschaftl. Botanik Bd. XXVII, 1895.

in der gleichen Arbeit noch eine genaue Beschreibung der Geisseln der Cladothrixschwärmer. Nach seinen Angaben trägt jedes der Cylindergonidien seitlich ein Büschel von 8—12, an einem Punkte entspringender Geisseln, die manchmal zu einer dicken Geissel zusammengedreht erscheinen; die Ursprungsstelle liegt bald der Spitze, bald der Basis des Fadens näher, immer aber an einer der Längsseiten und nicht, wie Zopf meinte, an den Polen. Es können sich deshalb auch die Geisseln schon innerhalb der Scheide, wenn die Glieder noch im Zusammenhang sind, entwickeln, da ja zwischen ihnen und der Scheide genügend Platz ist. Mehr als ein Geisselbüschel kommt nicht vor; Verschiebungen der Geisseln täuschen manchmal das Gegentheil vor.

Wie die Zahl so schwankt auch die Grösse der Geisseln; oft finden sich ausser 5—8 Hauptgeisseln noch einige kürzere Nebengeisseln. Die sich ablösenden Glieder oder Gliederketten werden nach Fischer auf zweierlei Weise frei, entweder durch Auflösung und Zersetzung der Scheide oder durch selbständige Auswanderung aus derselben; ob der eine oder andere Fall eintritt, hängt davon ab, ob die Geisseln vor der Auflösung und Zersetzung der Scheide sich entwickeln oder nicht. Fischer erwähnt endlich noch ausdrücklich, dass er nur cylindrische Gonidien von derselben Gestalt, wie sie den Gliedern im Faden zukommt, beobachtet habe.

Büsgen[1]) gelang es zum ersten Male, die Cladothrix dichotoma rein zu cultiviren. Nach seinen Angaben wachsen die Cladothrixfäden in einer nicht zu consistenten, mit wenig Fleischextract versetzten Gelatine langsam ohne merkliche Verflüssigung des Substrates zu anfangs kreisrunden, weissen Flecken heran, welche nach einigen Tagen Höfe von Fäden bekommen, die nach allen Seiten ausstrahlen. An den weissen Flecken lässt sich ein opakes, weisses Centrum von einem halbdurchsichtigen Hofe unterscheiden, der in den Strahlenkranz übergeht. In Stichculturen nimmt die Länge der Fäden von der Oberfläche der Gelatine nach ihrem Innern hin ab und die Colonien ragen nicht über die Gelatine hervor. Die einzelnen Colonien bestehen aus verschieden starken Fadenbündeln und vielfach gebogenen Einzelfäden, die sich durch homogenen, körnchenlosen Inhalt

[1]) Berichte der Deutschen botan. Gesellsch. 1894, S. 147.

und spärliche Verzweigung auszeichnen und streckenweise in Stäbchenhaufen übergehen. Aussen werden die Fäden von einer membranösen Scheide begrenzt, welche an der Fadenspitze offen ist und innerhalb derer die einzelnen Stäbchenglieder ein ziemlich selbständiges Dasein führen. Es scheint, dass jedes von ihnen wächst und sich quer theilt: den hierzu erforderlichen Raum gewinnt es dadurch, dass es einen Theil der spitzenwärts von ihm befindlichen Stäbchen aus der Scheide herausdrängt, oder dadurch, dass es an seinem Nachbarstäbchen seitlich vorüber zu wachsen versucht. In letzterem Falle kann durch den Druck die in der Gelatine ohnehin nur schwach entwickelte Scheide eine Zerreissung erfahren, die zum Austreten von Stäbchen führt. In Wasserculturen eilen die auf die eine oder andere Weise befreiten Individuen oft als Schwärmer davon; in der Gelatine unterbleibt aber das Ausschwärmen und kommen durch Verlängerung und Theilung der ausgetretenen Stäbchen die zooglöaähnlichen Stäbchenhaufen zustande. Nach der Ansicht Büsgen's sind das also nur zufällige, ganz allein durch die bewegungshemmende Wirkung der Gelatine bedingte Bildungen. In üppig wachsenden Culturen treten häufig Anschwellungen der Fäden auf, die durch Uebereinanderschieben oder Aneinandervorbei-Wachsen der einzelnen Stäbchen, oft unter Sprengung der Scheide, entstehen. Jede Rissstelle einer Scheide kann durch Austreten der Stäbchen Ursprungsort eines ganzen Büschels neuer Fäden werden, die alle Schwärmstäbchen hervorzubringen vermögen. Wo sich Schwärmstäbchen bilden, ist eine Anzahl von Fadengliedern nicht von der Scheide umgeben, sei es, dass dieselben überhaupt keine besassen, sei es, dass ihre Scheide verquollen ist, oder sei es endlich, dass sie durch Wachsthum hinter ihnen liegender Stäbchen aus derselben herausgedrückt worden sind. Die Schwärmer sind Stäbchen von etwa der vierfachen Länge ihres Durchmessers; sie setzen sich mit dem einen Ende fest, während das andere noch lange sich bewegen kann und dann zum Faden auswächst. Die Anheftung geschieht durch eine wahrscheinlich klebrige Substanz, welche sich mit Hilfe von Farbstoffen um das betreffende Stäbchenende herum nachweisen lässt und deren Bildung als Folge eines Berührungsreizes angesehen werden darf. Bildung von endogenen Dauersporen (Endosporen) und von Mikrokokken, wenn man nicht Kurzstäbchen als solche bezeichnen will, ist in keiner Cultur

aufgetreten. Frühere Beobachter sind getäuscht worden zum Theile durch vertical zum Auge gestellte Stäbchen, zum Theile durch glänzende, aus fettartigen Substanzen zusammengesetzte Tröpfchen im Protoplasma der Fäden, die in denselben auftreten, wenn die Nahrungszufuhr die augenblicklichen Bedürfnisse übersteigt.

Bei ruhigem Stehenlassen der Cladothrixculturen kann Hautbildung eintreten in der Weise, dass schwärmende Stäbchen sich, vertical nach unten gerichtet, an die Oberfläche der Nährflüssigkeit anheften und zu Fäden auswachsen; eine junge Cladothrixhaut besteht also grösstentheils aus Fäden, die einander parallel von der Oberfläche ins Wasser herabhängen.

Von anderen Entwicklungszuständen der Cladothrix beobachtete Büsgen noch eigenthümlich gestaltete Fäden, ähnlich homogonienbildenden Algen, welche Fäden sich durch dicke Scheiden und eine auffallende Gruppirung ihrer Stäbchen auszeichneten; letztere oft ebenso lang wie breit, lagen beispielsweise in wenig-gliedrigen Reihen beisammen, welche durch Pfropfen einer structurlosen Masse, wohl Reste abgestorbener Stäbchen, getrennt waren. Büsgen hält diese Erscheinung für identisch mit der von Winogradsky beschriebenen Gliederung der Stäbchen in je 4—5 runde Körperchen.

Ausserdem beobachtete Büsgen noch Involutionsformen, die meist auf plasmolysirende Wirkungen zurückzuführen sind; namentlich treten diese Formen auf bei ungünstigen Culturbedingungen.

Unter den zahlreichen mit Cladothrix zusammenlebenden, fremden Organismen sah Büsgen besonders regelmässig ein Spirillum, das er lange Zeit für eine Entwicklungsform der Cladothrix hielt.

Ausser den genannten Forschern machen auch noch Mace,[1]) Günther und Rullmann[2]) Mittheilungen über Cladothrix dichotoma. Nach der Beschreibung handelt es sich aber bei diesen um echt verzweigte Fäden, die nicht zur Cladothrix, sondern wahrscheinlich zur Gattung Streptothrix gehören.

Ebenso verhält es sich mit den übrigen, zahlreichen Cladothricheen, die unter den verschiedensten Namen beschrieben worden sind. Ich erwähne sie im Folgenden nur kurz.

---

[1]) Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. 1888.

[2]) Weitere Mittheilungen über Cladothrix dichotoma und odorifera. Centralblatt für Bacteriologie 1896, Bd. II, S. 701.

Acosta und y Grande Rossi[1]) beschreiben eine Cladothrix invulnerabilis, die verzweigtes Mycel mit Luftfäden und grosse Resistenz (bis 120° C.) besitzt.

Eppinger's Cladothrix asterioides,[2]) aus einem Gehirnabscess, und Hesse's[3]) und Garten's[4]) Cladothrix liquefaciens, aus zwei aktinomycesähnlichen Erkrankungsfällen des Menschen gezüchtet, sind ebenfalls echt verzweigte Fadenpilze, die vielleicht auch zum Theile der Streptothrix alba (Rossi-Doria) nahe stehen.

Zu den Streptothricheen gehören auch die von B. Fischer[5]) aus Wasser gezüchteten Cladothrixarten; dann die von Kedzior[6]) aus Cloaken- und Spreewasser cultivirte, thermophile Cladothrix, ferner die von Naunym[7]) gelegentlich der Section eines Falles von Chorea auf den Hirnhäuten und den endokarditischen Efflorescenzen gefundene „Cladothrixart", weiters die von

Rullmann[8]) aus dem Fehlboden zweier Gebäude, in denen eine Typhus-Hausepidemie herrschte, rein cultivirte, charakteristischen Erdgeruch erzeugende Cladothrix odorifera, und endlich die beiden von

Tschierschke[9]) beschriebenen, aus dem Leberblute einer Eklamptischen, bezw. aus Vaginalsecret stammenden Cladothricheen.

Flügge zählt in seinem Lehrbuche „Die Mikroorganismen" (1896) unter den Cladothricheen ausser der Cladothrix dichotoma Cohn auch noch die Cladothrix ochracea Winogradsky's[10]) und die Cladothrix intricata Russell's[11]) auf.

---

[1]) Descripción de un nuevo cladothrix, Cladothrix invulnerabilis, Crónica médico-quirúrgica de la Habana 1893, Nr. 3.

[2]) Cladothrix asterioides, Ziegler's Beiträge, IX.

[3]) Deutsche Zeitschrift für Chirurgie, Bd. XXXIV.

[4]) Ueber einen beim Menschen chronische Eiterung erregenden pleomorphen Mikroben, Deutsche Zeitschrift für Chirurgie, Bd. XLI, Heft 4 u. 5.

[5]) Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten, Bd. XIII, S. 280.

[6]) Ueber eine thermophile Cladothrix, Archiv für Hygiene, Bd. XXVII, Heft 4.

[7]) Mitth. Klin. Königsberg 1888.

[8]) Chemisch-bacteriologische Untersuchungen von Zwischendeckfüllungen mit besonderer Berücksichtigung von Cladothrix odorifera. (Inaug.-Dissert.) München 1895. — Weitere Mittheilungen über Cladothrix odorifera, Centralblatt für Bacteriologie 1896, Bd. II, S. 116. — Weitere Mittheilungen über Cladothrix dichotoma und odorifera, Centralblatt für Bacteriologie 1896, Bd. II, S. 701.

[9]) Leipziger Dissertation 1891.

[10]) Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bacterien, Bot. Zeitung 1888.

[11]) Untersuchungen über im Golfe von Neapel lebende Bacterien, Zeitschrift für Hygiene, Bd. XI, S. 165.

Erstere, identisch mit Kützing's Leptothrix ochracea, bildet zwar festsitzende, bescheidete, schlanke, gegliederte Bacillenfäden, aber keine der Cladothrix eigene Pseudoramification; letztere aus dem Golfe von Neapel, die auf allen Nährböden leicht zu züchten ist (Gelatine rasch verflüssigt und auf Agar und Kartoffeln als dünne, mattweisse Haut wächst) und eine ellipsoidische Dauerspore bildet, besitzt zwar Pseudoramification, dagegen aber keine Scheide, weshalb sie meist nur aus verschlungenen Fadennetzen besteht.

Während der letzten Jahre beschäftigte ich mich eingehendst mit der Untersuchung dieser Cladothrix dichotoma Cohn. Das Rohmaterial hiezu verdanke ich der Freundlichkeit des Herrn Prof. Dr. Stahl in Jena und des Herrn Prof. Dr. Büsgen in Eisenach, wofür ich hiermit meinen besten Dank erstatte. Auch Material aus dem Freisinger Stadtbache diente zur Untersuchung.

Die in Filtrirpapier verpackten grauen, verfilzten Massen wurden zunächst in Münchener Leitungswasser gebracht, fest geschüttelt und auf diese Weise zertheilt. Grössere und kleinere graue Flocken isolirten sich nun, während sich Sandmassen und sonstige zufällige Verunreinigungen zu Boden des Glases senkten. Die kleinen Flocken bestanden der Hauptmasse nach aus Cladothrixfäden, dazwischen noch diverse andere Spaltpilze. Eine grössere Anzahl dieser Flocken wurde nun öfters in sterilisirtem Wasser ausgewaschen und dann nach den bekannten Methoden zu verschiedenen Culturanlagen verwandt: ein Theil wurde zu Gelatineplattenaussaaten (Zusammensetzung der Gelatine: 1 Theil Fleisch, 2 Theile Wasser, hiezu 1% Pepton, 0·5% Kochsalz, 10% Gelatine, neutralisirt) verwandt, ein zweiter Theil in Reagensgläser mit ganz schwacher, steriler Fleischextractlösung verbracht, während endlich mit einem dritten Theile mehrere grössere Bechergläser, die Münchener Leitungswasser enthielten, beschickt wurden. Sämmtliche Culturen wurden bei Zimmertemperatur gehalten. Leider verlief dieser Versuch zunächst resultatlos, aus Gründen, auf die ich späterhin zurückkommen werde.

In den wasserhellen, schwachen Fleischextractlösungen war bei gewöhnlicher Zimmertemperatur meist schon nach einigen Tagen, im Brutofen bei 30° C. in der Regel schon nach 24 Stunden an der Oberfläche eine mehr oder minder starke, flaumige, weissliche, flottirende Schichte sichtbar, die mikroskopisch der Haupt-

sache nach aus Cladothrixfäden bestand, dazwischen aber stets immer noch andere Spaltpilzbeimengungen aufwies. Auch begann sich alsbald die übrige Nährlösung regelmässig diffus zu trüben, so dass auch von hier aus, trotz unzählig gemachter Versuche von Verdünnungen und Aussaaten in die verschiedensten Nährmedien und dergleichen mehr, keine Reinculturen erzielt werden konnten.

In den Bechergläsern mit gewöhnlichem Wasser, die durch doppelt aufgelegtes und am Rande umgestülptes Filtrirpapier vor Einfallen von Staub geschützt wurden, zeigten sich erst nach mehreren Tagen an den Seitenwänden des Glases kleine, aus feinen Fädchen bestehende Büschelchen von weisslicher Farbe, die bei leichter Bewegung des Glases hin und her flottirten, sich aber dabei nicht vom Glase loslösten. Solche Fadencolonien traten immer ziemlich zahlreich auf und erreichten eine Länge von 3—4 mm. Mikroskopisch fanden sich zwischen den Fäden nur sehr vereinzelt noch andere Spaltpilzzellen. Am Boden des Glases, wie auch an der Oberfläche des Wassers hatten sich meist grössere Flocken gebildet, welche aber von fremden Beimengungen stärker durchsetzt waren.

Es wurden nun zunächst die Bechergläser langsam entleert, mit Wasser alsbald wieder gefüllt und wieder entleert und dieses öftere Male wiederholt, dabei aber stets darauf geachtet, dass die an den Innenwänden der Gläser haftenden, kleinen Cladothrixbüschel sich nicht ablösten; dabei wurden die meisten fremden Kokken, Bacterien etc. etc. mechanisch weggespült. Auf diese Weise wurde nach und nach ein reineres Product erhalten und fortwährend neue Cladothrixrasen gebildet, die fast reines Aussehen zeigten. Letztere endlich wurden zu Plattenaussaaten mit einer Gelatine von folgender Zusammensetzung verwendet: Eine ganz schwache Fleischextractlösung (ca. $^1/_2$ g Fleischextract auf 1 l Wasser) wurde versetzt mit $4^1/_2$ % fester Gelatine, gekocht, neutralisirt, nochmals gekocht, filtrirt, in Reagensgläser gefüllt und endlich sterilisirt. Die fertige Gelatine war wasserhell und erstarrte noch vollständig.

In diesen Platten traten bei Zimmertemperatur schon nach einigen Tagen kleine, isolirte, theilweise völlig reine Cladothrixcolonien auf, die sich sehr gut zu weiteren Reinculturen eigneten. Vorsichtshalber wurden jedoch noch einmal von einzelnen Colonien Plattenaussaaten gemacht, um ja bezüglich Reinheit sicher zu

gehen. Letztere Platten blieben denn auch von fremden Spaltpilzkeimen vollkommen frei und nur die reine Cladothrix vermehrte sich in ihnen.

Alle nachfolgend beschriebenen Culturen stammen von solchen Plattenaussaaten und wurden von Zeit zu Zeit durch Anlage neuer Gelatineplatten controlirt.

1. Bouilloncultur en.

Die Cladothrix dichotoma verlangt zu ihrer Entwicklung nur eine ganz schwache Bouillon, etwa $^1/_2$ g Fleischextract auf einen Liter Wasser. Ein Gebrauch von mehr Fleischextract oder Zusätze von Pepton, Kochsalz u. s. w., wie sie sonst zur Beförderung des Wachsthums bei der Herstellung der gewöhnlichen Spaltpilznährlösungen Verwendung finden, beeinträchtigen oder heben ganz ihre Entwicklung auf.

Bringt man mittels ausgeglühter und wieder erkalteter Platinöse von einer Gelatineplatte eine kleine, isolirte Colonie in eine Nährlösung obiger Zusammensetzung, schüttelt etwas und stellt sie in einem Thermostaten bei circa 30° C. auf, so treten schon nach 24 Stunden in derselben kleine flaumartige Flöckchen auf, die zum Theil ganz regelmässigen Bau zeigen, d. h. im Centrum ein weisses, undurchsichtiges Pünktchen, von dem aus radiär in gleichmässiger Anordnung feinste Fädchen ausstrahlen; diese Flöckchen haben deshalb grosse Aehnlichkeit mit den im Sommer frei umherfliegenden, haarigen Weiden- und Pappelsamen. In der Folge vergrössern sich diese Flocken und Büschel, deren Ausläufer bis $^1/_2$ cm lang werden können, und setzen sich dann nach einer gewissen Zeit, abhängig von der Temperatur, unter welcher die Culturen gehalten werden, zu Boden und bilden dort einen $^1/_2 - 1$ cm hohen, leicht beweglichen Bodensatz. Die darüber stehende Nährlösung ist dabei vollständig klar, wie überhaupt immer frei von jeglicher diffusen Trübung, die sich nicht einmal durch relativ starkes Schütteln des Glases erzeugen lässt; denn die Flocken bleiben dabei immer noch zu grösseren oder kleineren bestehen und ist eine diffuse Zertheilung derselben nicht möglich.

Nach einer oder mehreren Wochen treten bei ruhigem Stehen der Gläser über dem flaumigen Bodensatz in der klaren Flüssigkeit wieder kleine schwimmende, leicht bewegliche Flocken auf, die nach kürzerer oder längerer Zeit ebenfalls zu

Boden sinken. Dies kann sich öftere Male wiederholen, bis eben die zur Entwicklung nothwendigen, günstigen Bedingungen aufhören. Auf solche Weise kann am Boden des Glases sich ein über 1 cm hoher, dünnflockiger Belag bilden, in welchem man bei genauerem Zusehen vereinzelt kleine weisse Pünktchen wahrnehmen kann.

Es können aber auch noch an der Innenwand des Glases Colonien zur Entwicklung kommen in der Art, dass kleine weisse Pünktchen auftreten, von denen aus je ein mehrere Millimeter langes Büschel feiner Fäden in die Flüssigkeit ausstrahlt. Diese Wandcolonien, die namentlich bei schiefer Lagerung der Gläser auftreten, haften der Wandung fest an und flottiren bei Bewegung der Culturen sehr schön hin und her.

An der Oberfläche der Nährlösung kann auch eine Vermehrung der Cladothrix vor sich gehen, u. zw. auf zweierlei Weise. Es kann nämlich dort einmal eine mehr oder minder starke, gleichmässig aussehende, flaumige Zone auftreten, die bis $^1/_2$ cm tief in die Flüssigkeit reicht und aus vertical einander parallel gestellten, an der Oberfläche haftenden Fäden zusammengesetzt ist.

Oder es können zweitens zuerst kleine, weisse, stark glänzende Pünktchen sich entwickeln, ähnlich wie an der Innenwand des Glases, und von diesen aus dann sich Fadenbüschel nach abwärts erstrecken. Die herabhängenden Fäden sind aber hier in der Regel kürzer und durch Vereinigtsein zu Gruppen haben sie auch ein weniger zartflaumiges Aussehen. Die einzelnen Pünktchen sind meist noch durch kaum sichtbare Fäden miteinander verbunden.

Ausnahmsweise können sich nun diese weissen Pünktchen auch vergrössern, bis hirsekorn- und halblinsengross werden und weissliche, undurchsichtige, saftig glänzende Läppchen bilden von unregelmässiger Gestalt und ziemlich beträchtlicher Dicke, die Ränder scharf begrenzt oder mit einem schmalen Flaummantel umsäumt. Ein Zusammenfliessen der einzelnen Pünktchen zu einer die ganze Oberfläche der Nährflüssigkeit überziehenden Haut konnte aber nie beobachtet werden. Die Pünktchen breiten sich überhaupt nur sehr langsam aus und haben also ein begrenztes Flächenwachsthum. Auch sie können Fadenbüschel in die Nährlösung senden und unter einander durch zarte Fäden verbunden sein.

Sie selbst zeigen ein festes Gefüge; durch starkes Schütteln des Glases oder mit Hilfe der Platinnadel lassen sie sich, wenn auch schwer, zwar in kleinere Stücke zerreissen, aber nie diffus zertheilen.

Mit schwacher Vergrösserung betrachtet, erscheinen diese Oberflächengebilde als braungelbe, undurchsichtige, grob granulirte Massen, die gegen die Peripherie zu lichter, mehr gelbbraun werden und deren Ränder zum Theil scharf begrenzt sind, zum Theil in ein farbloses Fadengemenge allmälig übergehen. Bei der Untersuchung mit starker Vergrösserung und eventueller vorheriger Färbung erweisen sie sich zusammengesetzt aus dicht neben und über einander gelegenen stäbchenförmigen Gliedern vom Aussehen und Habitus der in den Fäden befindlichen, welche Glieder durch eine structurlose, nur schwach sich färbende, schleimige Masse zusammengehalten werden, bezw. in einer solchen eingebettet liegen.

Es sei hier noch besonders erwähnt, dass gerade von diesen Zooglöamassen zur Prüfung auf ihre Reinheit und zugleich auf ihre Zugehörigkeit zur Cladothrix wiederholt Gelatineplattenaussaaten gemacht wurden mit dem Ergebniss, dass stets nur wieder Cladothrixcolonien sich entwickelten.

Wie bereits erwähnt, tritt das Oberflächenwachsthum nicht regelmässig auf, sondern nur ausnahmsweise, und zählen namentlich grössere Zooglöabildungen zu den Seltenheiten. Einmal konnten sie ziemlich häufig beobachtet werden auf einer Nährlösung, die durch blosses nochmaliges Uebergiessen bereits zur Bereitung anderer Bouillon verwendeten und deshalb schon ausgesottenen Fleisches mit Wasser hergestellt war.

Nicht zu verwechseln mit den eben beschriebenen Zooglöabildungen sind jene Massen, die an etwas älteren Culturen manchmal zu Gesicht kommen. Durch allmäliges Verdunsten der Nährflüssigkeit kann nämlich die an der Oberfläche zur Entwicklung gekommene, herabhängende Flaumschichte an irgend einer Stelle der Wand des Glases hängen bleiben und auf diese Weise dann nicht mehr dem sinkenden Flüssigkeitsniveau folgen. Es entstehen so zuweilen ganz mächtige, der Wand des Glases anliegende Hautmassen, welche mit ihrem unteren Theile noch mehr oder weniger tief in die Nährlösung reichen. Mikroskopisch betrachtet zeigen sich diese aber zum Unterschiede von obigen Hautgebilden nur aus Fäden zusammengesetzt.

Was nun endlich noch die Bouillon selbst anlangt, so zeigt diese selbst nach Monaten und bei stark erfolgter Entwicklung der Cladothrix nie eine Verfärbung. Hin und wieder glaubt man an älteren Culturen einen schwachen Stich ins Gelbbräunliche zu sehen, was aber ebenso gut auch durch das Alter der Lösung bedingt sein kann.

Temperatur. Zur Eruirung der Temperatur, bei der die Cladothrix am besten gedeiht, wurde in der Weise verfahren, dass von einer grösseren Anzahl ganz gleichmässig angelegter Bouilloncultureu immer je 3 Stück bei ca. 15, 20, 25, 30 und 35° C. gehalten wurden. Es zeigte sich dabei, dass die bei 25° C. gehaltenen sich am schnellsten und stärksten entwickelten; dann kamen der Reihenfolge nach die bei 30, 20, 35 und 15° C. Es dürfte somit zwischen 25 und 30° C. das Temperaturoptimum für die Entwicklung der Cladothrix dichotoma liegen.

Sauerstoffbedürfniss. Um das Sauerstoffbedürfniss der Cladothrix zu ihrem Gedeihen festzustellen, wurde wieder eine grössere Anzahl Culturen vollständig gleichmässig angelegt und von diesen ein Theil frei, ein zweiter Theil bei Luftabschluss nach Buchner's Methode (Pyrogallussäure und Kalilauge) und ein dritter Theil unter Kohlensäure gehalten. Während bei den frei aufgestellten Culturen schon alsbald das charakteristische Wachsthum sichtbar wurde, konnte bei den beiden anderen Partien in keinem Glase selbst nach mehreren Wochen die geringste Entwicklung beobachtet werden. Die Cladothrix dichotoma braucht demnach zum Wachsen unbedingt Sauerstoff und muss deshalb zu den obligat aëroben Arten gezählt werden.

Licht. In ähnlicher Weise wurde auch die Einwirkung des Lichtes auf die Entwicklung der Cladothrix dichotoma berücksichtigt, wesentliche Unterschiede hiebei jedoch nicht gefunden. Sie wuchs im Dunkeln ebenso gut wie im directen Sonnenlichte.

2. Gelatineculturen.

Ein Wachsthum der Cladothrix dichotoma in Gelatine ist von bestimmten Bedingungen in Bezug auf die Zusammensetzung des Nährbodens abhängig. Es muss nämlich einmal die zur Gelatinebereitung verwendete Bouillon wieder sehr schwach sein und ferner der Zusatz von fester Gelatine so gering als nur möglich. Sobald die Gelatinen concentrirter sind, findet keinerlei Wachsthum mehr statt. Am besten erwies sich nachfolgendes festes Nährmedium:

In einem Liter Wasser wird eine kleine Messerspitze voll Fleischextract gelöst und dazu 40—45 g feste Gelatine gegeben; das Ganze wird dann gekocht, filtrirt, eventuell vorher mit Eiweiss geklärt, in Reagensgläser eingefüllt und sterilisirt. Die fertige Nährgelatine ist ganz wasserklar, ohne jeden gelblichen Ton und wird bei Zimmertemperatur noch fest.

Selbstverständlich muss hier auf das Kochen und Sterilisiren grosse Sorgfalt verwendet werden: strömende Wasserdämpfe während kurzer Zeit, da sonst die Gelatine leicht an ihrer Erstarrungsfähigkeit Einbusse erleidet. Die Reaction soll neutral oder schwach sauer sein.

a) Gelatineplattenculturen. Nimmt man aus einer Bouilloncultur mittels ausgeglühter Platinnadel eine kleine Cladothrixflocke und sticht mit dieser dann hinter einander, ohne dazwischen auszuglühen, in 4 oder 5 erstarrte Nährgelatinegläser, verflüssigt diese hierauf in einem Wasserbade von 30—35° C. und giesst sie zu Platten aus, so erhält man in der Regel eine oder mehrere Platten von der richtigen Verdünnung, d. h. mit deutlich isolirten Colonien, so dass man das Wachsthum jeder einzelnen für sich leicht verfolgen kann.

Je nach der Temperatur, bei der die Platten gehalten werden, kann man mehr oder minder rasch eine Entwicklung beobachten. Im Sommer bei Zimmerwärme (18—20° C.) sieht man bereits nach 12 Stunden bei Durchmusterung der Platten unter dem Mikroskope kleinste isolirte Colonien, die aus einem Faden oder aus mehreren über- und durcheinander liegenden bestehen, von dünner, heller, farbloser Beschaffenheit. deutlich doppelt contourirt, selten gerade steif, sondern meist mehr oder weniger geschlängelt und immer unverzweigt. Nach 24—36 Stunden haben sich diese bereits so vergrössert, dass sie schon mit blossem Auge sichtbar sind als kleinste, weissliche, wolkige, in der Gelatine liegende Fleckchen von unregelmässiger Gestalt und ohne scharfe Begrenzung. In der Folge tritt im Centrum allmälig ein weisses Pünktchen auf, das von einem gleichmässigen, schwachen, flaumartigen Hofe umgeben ist. Mit schwacher Vergrösserung betrachtet, zeigen die Pünktchen ein gelbbräunliches, grob granulirtes Aussehen, während ihr Hof aus einem Fadengewirre besteht. Eine scharfe Abgrenzung zwischen beiden ist jedoch nicht gegeben, sondern sie gehen allmälig ineinander über. Bei weiterer mikroskopischer Untersuchung findet man dann,

dass die grob granulirte, undurchsichtige und bräunlich verfärbte Beschaffenheit der centralen Partie der Colonie vor Allem bedingt ist durch zahlreiche, aus den Scheiden frei gewordene, stäbchenförmige Glieder und durch dichteres Beisammenliegen der Fäden.

Die Colonien zeigen also schon frühzeitig, sobald sie einmal dem blossen Auge sichtbar werden, im Innern bräunlich körnige Beschaffenheit und nach aussen Fäden, welche zwar auch noch im Centrum schwach gesehen werden können, hier aber durch das Gehäuftsein und durch die vielen auf- und dazwischen liegenden stäbchenförmigen Glieder nicht mehr deutlich hervortreten.

Im Laufe der Zeit nehmen die Colonien an Ausbreitung verhältnissmässig wenig zu und erreichen bei isolirter Lagerung meist nur etwa Linsengrösse. Das makroskopisch weissliche, centrale Pünktchen ist ungefähr hirsekorngross geworden und in seiner mikroskopisch gelbbräunlichen Farbe sind ein oder mehrere dunklere, bräunlichgelbe, ganz undurchsichtige, verschwommene Partien aufgetreten, deren unregelmässig gestaltete Ränder nicht scharf begrenzt sind, sondern allmälig in das sie umgebende, hellere, gelbbräunliche Colorit übergehen.

Bei genauerer mikroskopischer Prüfung bestehen diese dunkleren Stellen nur aus dicht gelagerten Stäbchen, die in einer structurlosen, homogenen Masse eingebettet liegen. Es hat hier also ähnlich wie an der Oberfläche der Bouillon eine Stäbchenvermehrung ohne bestimmte Anordnung und in unregelmässiger Richtung stattgefunden.

Die peripheren Theile der Colonie werden von Fäden gebildet, die in der Regel ein nach aussen gerichtetes Wachsthum zeigen, selten gerade, sondern meist geschlängelt und unverzweigt sind. Ziemlich häufig begegnet man auch gleichmässig gewellten Formen, ja sogar hin und wieder schön spiralig gewundenen und dazwischen allen möglichen Uebergängen.

Die Form der Fäden, die übrigens auf die Form der innenliegenden, stäbchenförmigen Glieder keinen nennenswerthen Einfluss hat, ist jedenfalls bedingt durch den Widerstand, der ihrem Wachsthum entgegentritt. Es ist deshalb hier nicht am Platze, von einer eigenen Spirillumform der Cladothrix zu sprechen, wie dies Zopf gethan hat; denn diese Gestalt der Fäden ist keine bleibende und immer wiederkehrende, sondern nur eine

vorübergehende und von äusseren Einflüssen abhängige. Beim Milzbrandbacillus z. B. liegen die Verhältnisse ganz ähnlich und doch fällt es Niemandem ein, von einer besonderen Milzbrand-Spirillumform zu sprechen.

An der äussersten Peripherie einer Colonie, wo die einzelnen farblosen Fäden wegen ihrer Isolirtheit gut sichtbar sind, kann man oft sehr schön wahrnehmen, wie an einer Stelle die Scheide platzt und aus derselben in grösserer oder kleinerer Anzahl Glieder entweichen, welche dann wieder nach den verschiedensten Richtungen zu Fäden auswachsen und so den Anfang von Tochtercolonien bilden, die schon nach einigen Tagen dasselbe Aussehen zeigen können, wie ihre Muttercolonie, nämlich gelbbräunliche, granulirte Beschaffenheit im Innern und aussen herum ein Fadengeflecht. Der Abstand einer solchen neuen Colonie von der alten ist manchmal ziemlich beträchtlich und die Verbindung zwischen beiden wird durch den fern von der Muttercolonie geplatzten Faden hergestellt.

Je nachdem die einzelnen Glieder beim Austritt aus der Scheide diese oder jene Lagerung erhalten, können sie manchmal beim Auswachsen zu Fäden einen mehr oder weniger gleichmässigen Strahlenkranz um die Rissstelle der Scheide bilden.

Was man hier übrigens von einzelnen, peripher gelegenen Fäden einer Colonie beobachten kann, geht, wie bereits erwähnt, in stetig fortschreitendem Masse im Innern derselben vor sich.

Von der bisher beschriebenen Entwicklung der Colonien, nämlich aus ursprünglich angelegten Fäden, weicht jene etwas ab, bei der zu allererst eine Stäbchenvermehrung nicht nach einer Richtung (Fadenform), sondern wirr durch einander gelagert auftritt. Man sieht hier als erste Anfänge unter dem Mikroskope kleine, farblose, stark lichtbrechende, glänzende, granulirte Massen von unregelmässiger Gestalt, die sich dann vergrössern zu rundlich lappigen, gelbbräunlich gefärbten Colonien mit scharf begrenzten und schwach gezähnten Rändern. Dem blossen Auge erscheinen sie als kleine, weisse, in der Gelatine liegende Punkte. Aus diesen kommen nach einigen Tagen farblose Fäden heraus, die strahlenförmig die noch ziemlich scharf abgesetzten Colonien umgeben. Mit der Zeit, wenn an den Fäden Stäbchenentleerungen stattgefunden haben, wird aber die Grenze verschwommener und zuletzt zeigen diese Colonien keinen merklichen Unterschied mehr von jenen, die sich aus Fäden entwickelt haben.

Die mikroskopische Untersuchung einer solchen Colonie in ihrem Anfangsstadium lässt deutlich nur stäbchenförmige Glieder in einer der Cladothrixscheide ähnlichen Masse erkennen. Sie lassen sich auch auf dem Deckglase mit der Platinnadel nicht diffus zertheilen, sondern bleiben stets zu Klümpchen vereinigt.

Mit der Cladothrixentwicklung ist stets eine Verflüssigung der Gelatine verbunden. Der Eintritt und die Ausdehnung derselben hängt vor Allem davon ab, ob die Platte von einer Bouilloncultur oder von einer älteren, bereits verflüssigten Gelatinecultur angelegt wurde.

Bei Bouillonabimpfung tritt in Gelatineplattenaussaaten eine sichtbare, schwache Verflüssigung des Nährbodens verhältnissmässig erst spät ein und dann nur in sehr bescheidenen Grenzen. Bei geeigneter Verdünnung und nicht allzu dichter Aussaat, so dass die Colonien recht isolirt zu stehen kommen, ist eine vollständige Verflüssigung der Platte überhaupt äusserst selten.

So lange die Colonien noch grösstentheils aus Fäden, d. h. aus in Scheiden hinter einander gelagerten Gliedern bestehen, zeigt die Gelatine keine wesentliche Consistenzveränderung. Erst wenn in grösserer Menge Glieder aus den Scheiden frei werden, werden die verflüssigenden Enzyme ausgeschieden und beginnt sodann die Gelatine etwas weich zu werden, was man beim Herausnehmen der Colonien mittels der Platinnadel am besten wahrnehmen kann. Dieses Weichwerden des Nährbodens macht aber bei Zimmertemperatur nur sehr langsame Fortschritte und erst nach etwa einer Woche kann man mit blossem Auge kleine, dellenförmige Vertiefungen an den der Gelatineoberfläche zunächst gelegenen Colonien bemerken. Allmälig sieht man dann auch an den tiefer gelegenen Colonien kleine Verflüssigungsringe, in deren Mitte stets der gelbbräunliche Rasen sich befindet. Treten letztere weit von einander auf, so bleibt auf diesem Stadium die Verflüssigung wochenlang stehen und macht überhaupt keine wesentlichen weiteren Fortschritte mehr; in der Regel hat auch das Wachsthum der Colonien unterdessen fast ganz aufgehört.

Eine Verflüssigung der Gelatine im weiteren Umkreise der Colonien findet also nicht statt; es müsste denn sein, dass die Platten bei einer etwas höheren Temperatur (20° C.) gehalten werden, bei der die Consistenz des Nährbodens überhaupt an

Festigkeit einbüsst, wodurch das Wachsthum der einzelnen Colonien und damit auch die Verflüssigung sich lebhafter gestaltet.

Wesentlich anders verhält es sich aber, wenn man die Platte von einer älteren, bereits verflüssigten Gelatinestichcultur und vielleicht noch mit einer grossen Platinöse voll Cultur angelegt hat. Hier tritt eine Verflüssigung der Gelatine schon sehr frühzeitig ein. In der Regel schon nach 2—3 Tagen zeigen die kleinsten, mit dem blossen Auge eben sichtbaren Colonien Verflüssigung des Nährbodens, indem erstere in schalenförmigen Vertiefungen der Gelatine liegen, was man besonders schön sieht, wenn man die Platte schief von der Seite betrachtet. Die Gelatine ist eben schalenförmig um die Colonie weich geworden und am Grunde der Schale liegt das milchweissliche Kügelchen, von einem leichten Flaummantel umgeben.

Die Platte kann man jetzt noch umkehren, ohne dass die Gelatine abläuft. Solche Vertiefungen zeigen alle Colonien, auch jene, welche noch keine Fäden besitzen, sondern nur aus Gliedern allein bestehen.

Von der Seite gesehen, hat eine solche Gelatineplatte grosse Aehnlichkeit mit einem Reibeisen, namentlich wenn viele Colonien in entsprechenden Abständen sich entwickelt haben.

Die Verflüssigung schreitet dann ziemlich rasch vorwärts, so dass etwa nach acht Tagen die Platte vollständig verflüssigt ist: die Consistenz ist aber eine dickflüssige, schwer bewegliche.

Da das Wachsthum der Colonien hier in keinem Verhältnisse zu der raschen Verflüssigung der Gelatine steht, so dürfte letztere zum guten Theil auch auf Rechnung des bei der Anlage der Cultur mit der Platinnadel eingebrachten, leimlösenden Fermentes von der bereits verflüssigten, zur Abimpfung benützten Gelatinecultur zu schreiben sein.

Will man daher ein richtiges Bild von dem Verflüssigungsvorgange bekommen, so empfiehlt es sich immer, aus Bouilloncultureu das Aussaatmaterial zu nehmen.

b) Gelatinestichculturen. Um das Wachsthum der Cladothrix dichotoma im Gelatinestich schön verfolgen zu können, ist auch hier die Abimpfung von Bouilloncultureu anzurathen, weil man nur so ein richtiges Bild von der Art der Verflüssigung der Gelatine erhält. Eventuell können auch isolirte Plattencolonien zur Abzüchtung Verwendung finden, nur dürfen sie noch keinen Verflüssigungsring haben.

Hält man die also angelegten Gelatinestichculturen bei Zimmertemperatur (15—18° C.), so zeigen sich nach 2—3 Tagen und je nach der Dichte der Aussaat längs des Einstiches entweder vereinzelt gelegene, weissliche, kugelige Fadenbüschel, ähnlich wie sie in der Bouillon frei umherschwimmen, oder eine zusammenhängende „Gläserbürste", wie man sie bei Reinculturen des Schweinerothlaufbacillus (Bacillus erysipelatos suis) zu sehen gewohnt ist, nur mit dem Unterschiede, dass hier die ausstrahlenden Fäden bedeutend dicker erscheinen als beim Rothlaufbacillus.

Im oberen Theile des Einstiches, wo die Aussaat in der Regel dichter vor sich geht, ist meist zusammenhängendes, bürstenförmiges Wachsthum gegeben, während weiter nach abwärts schöne, isolirte, büschelförmige Colonien auftreten, welche hin und wieder im Centrum ein kleines, milchweisses Kügelchen bei genauerem Zusehen erkennen lassen.

Betrug aber die Temperatur ungefähr 20—22° C., so dass die Consistenz der Gelatine festweich war, so ist meist schon nach 24 Stunden entlang des Einstiches eine ausgebildete Gläserbürste zu sehen, die manchmal den ganzen Querdurchmesser des Nährbodens einnimmt und bis an die Seitenwände des Glases reicht.

Auf der Oberfläche der Gelatine, um den Einstich herum, konnte nie irgend welches Wachsthum beobachtet werden.

Nach 8—10 Tagen (bei 15° C.), hin und wieder auch etwas früher, treten in der Gläserbürste, u. zw. in ihrem der Oberfläche der Gelatine zunächst gelegenen Theile im Centrum ein bis mehrere kleine, schwach gelblich bis gelbbräunlich gefärbte Pünktchen auf. Gleichzeitig damit beginnt auch die Gelatine an der Oberfläche des Einstiches leicht schalenförmig einzusinken und ist so der Anfang zur Verflüssigung des festen Nährbodens gegeben. Diese geht jedoch auch hier wieder nur sehr langsam vor sich und in der Regel braucht es einige Wochen, bis sich die flachen, schalenförmigen Vertiefungen der Einstiche vereinigt haben und bis an die Wandung des Glases reichen. Die Verflüssigungsfläche ist dann eine horizontale und etwa 3—5 mm hoch.

Mit der Verflüssigung wird aber die Gelatine noch ockerartig bräunlich bis fast rauchgrau, aber stets klar und hell verfärbt und hebt sich dadurch von der unterhalb befindlichen, noch festen, wasserhellen Gelatine deutlich ab.

Mit Beginn der Verflüssigung sinkt allmälig die Gläserbürste zusammen und bildet dann am Grunde der schalenförmigen Vertiefungen einen weissen, flockigen Belag, der an Ausdehnung zunimmt und schliesslich, wenn die einzelnen Verflüssigungsschalen zusammengeflossen sind, einen die ganze Weite des Glases einnehmenden, 1—2 mm hohen, weisslichen, flaumigen Rasen bildet und so die Grenze zwischen bereits verflüssigter und noch fester Gelatine darstellt. Beim Berühren mit der Platinnadel merkt man, dass dieser Grenzrasen ein zusammenhängendes Ganzes bildet, verfilzt ist und sich nur sehr schwer zertheilen lässt, dabei aber im Innern ein dichteres Gefüge aufweist als an der Peripherie.

Im weiteren Verlaufe macht die Verflüssigung der Gelatine, wie bereits erwähnt, nur sehr langsame Fortschritte und die Höhe der Verflüssigungsschicht beträgt bei Zimmertemperatur selbst nach einem Monate erst höchstens 1—1½ cm, so dass zur Verflüssigung der ganzen Gelatinesäule oft mehrere Monate nöthig sind. Ist letzteres eingetreten, so sieht man am Boden des Glases einen ½—1 cm hohen, flockigen, fest zusammenhängenden, mehr oder weniger stark verfilzten Belag, der sich durch Bewegen des Glases nicht vom Boden erheben, auch nicht zertheilen lässt, sondern fest zusammengefügt am Boden liegen bleibt. Die darüberstehende Flüssigkeitsschicht ist in der Regel vollständig klar, braunockerfarbig, dickflüssig und träg beweglich.

Diese charakteristische Art der Verflüssigung erhält man aber meist nur dann, wenn man von erst 2—3 Tage alten Bouillonculturen, die nur Fäden enthalten, abimpft und die neu angelegten Culturen bei Zimmertemperatur nicht über 15° C. ruhig stehen lässt.

Geschieht aber die Ueberimpfung von alten Bouillonculturen auf schon etwas ältere Gelatine, so tritt die Verflüssigung nicht so charakteristisch auf; sie hat dann anfänglich mehr ein schlauchförmiges Aussehen und die Verfärbung der flüssigen Gelatine ist auch schwächer und braucht viel länger, bis sie die braunockerartige Farbe erhält.

Hält man die Gelatinestichculturen bei etwas höherer Temperatur (20—22° C.), so dass die Gelatine gerade noch leicht erstarrt ist, so beginnt die Verflüssigung früher; es ist aber dann die Verfärbung schwächer.

Beträgt die Temperatur ungefähr 25° C. und hat die Gelatine deshalb bereits eine schwach flüssige Consistenz, so wird sie nach einigen Tagen bei sehr stark vor sich gegangenem Wachsthum der Cladothrix bei niederer Temperatur nicht mehr fest, sondern bleibt dickflüssig.

Hält man mehrere solche Gelatinestichculturen einige Monate bei erhöhter Temperatur und stellt sie dann ein paar Wochen im Zimmer auf, so kann man auch hier in einem oder mehreren Gläsern etwas Aehnliches beobachten, wie ausnahmsweise bei den Platten- und Bouillonculturen.

In der vollständig klaren, verflüssigten Gelatine zeigen sich nämlich zunächst kleine, weissliche Flocken, die auch an der Oberfläche in stärkerem Masse, ja sogar 1—2 mm dick sich entwickeln können. Diese Flocken haben aber nicht das sonstige flaumartige Aussehen der Colonien in Bouillon, sondern sind dichter, trübweiss, undurchsichtig; auch haben sie eine mehr hautartige Beschaffenheit; ihre Ränder sind nicht umsäumt von feinen, flaumigen Massen, sondern mehr oder minder scharf begrenzt. Diese an der Oberfläche schwimmenden häutigen Gebilde zeichnen sich auch hier noch dadurch aus, dass sie sich mit der Nadel auf dem Objectträger nicht diffus zerreiben lassen, sondern fest zusammenhängende Massen bilden und sich nur wieder in noch kleinere zerreissen lassen.

Zur Constatirung, dass diese Gebilde sicher zur Cladothrix gehörten und nicht etwa zufällige Verunreinigungen darstellten, wurden von ihnen auch hier wieder mehrere Gelatineplattenaussaaten gemacht, in denen aber stets nur Colonien mit den charakteristischen Cladothrix-Wuchsformen zur Entwicklung kamen.

Bringt man Theilchen dieser hautartigen Massen nach vorheriger wiederholter Auswaschung in sterilem Wasser in eine schwache Fleischextractlösung, so tritt auch hier in der Folge keine diffuse Trübung oder etwas sonst dergleichen auf, sondern immer nur die bekannten Fadenbüschel der Cladothrix, u. zw. sowohl als freischwebende, flaumige Flöckchen als auch, namentlich bei schiefer Lagerung der Gläser, als auf der unteren, nach aufwärts schauenden Innenwand der Gläser festhängende, kleine Fadenbüschel mit einem weissen, undurchsichtigen, dem Glase anliegenden, kleinen Pünktchen im Centrum.

Ein etwas vom Bisherigen abweichendes Wachsthum findet jedoch statt, wenn von den häutigen Gebilden Stichculturen in Gelatine angelegt werden. Es entwickeln sich nämlich hier in der Mehrzahl der Fälle zunächst den Einstichen entsprechend dünne Bandstreifen, welche bei genauerer Besichtigung aus ganz kleinen, weissen Kügelchen zusammengesetzt erscheinen. Aus diesen kommen nach ungefähr acht Tagen in radiärer Richtung feine Fäden heraus, so dass nach weiteren acht Tagen wieder die bekannte Gläserbürste deutlich zu sehen ist. Verflüssigung der Gelatine ist dabei um diese Zeit noch keine vorhanden; diese tritt erst später allmälig auf.

Was übrigens den Zeitpunkt des Eintrittes der Verflüssigung anlangt, so konnte durch fortgesetzte Untersuchungen festgestellt werden, dass dieser mit dem Auftreten grösserer Mengen freier Glieder aus geplatzten Scheiden zusammenfällt.

Ausser in schwacher Fleischextractlösung, Fleischwasserbouillon und Gelatine von den Herstellungsweisen, wie sie beschrieben wurden, fanden noch Züchtungsversuche der Cladothrix dichotoma auf und in folgenden Nährsubstraten statt:

3. Fleischwasser-Peptonbouillon, bereitet aus 500 g Fleisch, 1000 g Wasser, 10 g Pepton und 5 g Kochsalz; verwendet neutral, schwach sauer und schwach alkalisch.

4. Fleischwasser-Peptongelatine, vorige Fleischwasser-Peptonbouillon, versetzt mit 10% Gelatine; verwendet neutral, schwach sauer und schwach alkalisch.

5. Fleischwasser-Agar-Agar, schwache Bouillon, in der nachweislich die Cladothrix dichotoma wächst, versetzt mit $1^1/_2$% Agar-Agar; verwendet neutral, schwach sauer und schwach alkalisch.

6. Fleischwasserglycerin-Agar-Agar, voriges Fleischwasser-Agar-Agar, versetzt mit 2—$4^1/_2$% Glycerin.

7. Fleischwasserglycerinserum-Agar-Agar, voriges Fleischwasserglycerin-Agar-Agar, versetzt mit gleichen Theilen Pferdeblutserum.

8. Flüssiges Blutserum vom Pferd, Rind und Schwein.

9. Erstarrtes Blutserum vom Pferd, Rind und Schwein.

10. Milch, concentrirt und verschieden verdünnt mit Wasser.

11. Kartoffel, roh und gekocht.

12. Kartoffelwasser, Kartoffel zerdrückt und ausgepresst.

13. Heuinfus, klein geschnittenes Heu mit Wasser gekocht, filtrirt und sterilisirt.

14. Strohinfus, klein geschnittenes Stroh mit Wasser gekocht, filtrirt und sterilisirt.

15. Wasser, gewöhnliches Münchener Leitungswasser sterilisirt.

In und auf allen diesen Substraten, mit Ausnahme des letzten (Wasser), konnte niemals das geringste Wachsthum beobachtet werden, gleichviel, ob sie bei Zimmertemperatur oder bei höherer gehalten wurden. Nur im gewöhnlichen Leitungswasser entwickelten sich, wenn auch bedeutend langsamer als in schwacher Fleischextractlösung, die bekannten Cladothrixflocken. Irgend welche neue Momente boten aber diese Culturen nicht.

Fasst man die gefundenen Resultate über das künstliche Cultiviren der Cladothrix dichotoma noch einmal kurz zusammen, so dürfte sich Folgendes ergeben haben:

1. Die Cladothrix dichotoma ist künstlich züchtbar in schwachen Bouillon- und dünnen Gelatinelösungen.

2. Sie wächst hier in Fadenform zu weissen, flaumigen Flocken und Büscheln vereinigt, bezw. in Form einer Gläserbürste, ohne diffuse Trübung der Nährflüssigkeit.

3. Gelatine wird durch sie langsam und klar verflüssigt und zugleich braunockerartig verfärbt.

4. Feuchtglänzendes Wachsthum an der Oberfläche der Bouillon und der verflüssigten Nährgelatine ist nur ausnahmsweise in Form kleiner Zooglöamassen als Folge fortgesetzter Gliedertheilung beobachtet worden.

5. Ihr Temperaturoptimum liegt zwischen 25—30° C.

6. Die Cladothrix dichotoma ist eine obligat sauerstoffbedürftige Spaltpilzform.

Mikroskopisches.

Um den Entwicklungsgang der Cladothrix dichotoma mit all ihren Formen kennen zu lernen, eignen sich am besten Deckglasculturen im hängenden Tropfen.

Nimmt man zu diesem Zwecke aus einer mehrere Tage alten Bouilloncultur eine Cladothrixflocke, so gewahrt man mit schwacher Vergrösserung eine Menge dicht nebeneinander liegender, doppelt contourirter, langer, ziemlich breiter, farbloser, scheinbar homogener

Fäden; bei stärkerer Vergrösserung zeigen sich im Innern der Fäden längliche Körperchen.

Lässt man von der Seite einige Tropfen wässeriger Gentianaviolett- oder Safraninlösung unter das Deckglas zutreten, so erkennt man in einer schlauchförmigen Scheide längliche, stäbchenförmige, hintereinander liegende Glieder.

Die Scheide ist namentlich schön entwickelt in Bouilloncultureu; sie färbt sich mit den gewöhnlichen wässerigen Anilinfarbstofflösungen nur sehr schwach, am deutlichsten mit wässeriger Gentianaviolettlösung (1 Theil Gentianaviolett, 10 Theile Alkohol, 90 Theile Wasser) oder Carbolfuchsin (2 Theile Fuchsin, 10 Theile Alkohol, 90 Theile 5%iges Carbolwasser) und leichtem Erwärmen über der Flamme, wodurch sie eine leichtbläuliche, bezw. röthliche diffuse Färbung annimmt und homogene, hyaline Beschaffenheit zeigt.

Vergleicht man nach obiger Färbemethode Fäden aus Reinculturen mit solchen im Freien gewachsenen, so erscheinen letztere stets etwas stärker als erstere. Der Querdurchmesser der Fäden aus Reinculturen variirt von 2—4 μ.

Deutlichere Tinctionen erhält man, wenn vor der Anilinfärbung ein Bad aus 30 ccm concentrirter wässeriger Tanninlösung (20 : 80) und 10 ccm Eisenchloridlösung (1 : 20) verwendet wird.

Nach der Gram'schen Methode werden die Scheiden nicht gefärbt.

Die Fadenglieder sind vor Allem sehr leicht färbbar mit den verschiedensten Anilinfarbstoffen, so Gentianaviolett und Fuchsin, und stechen dann durch ihre dunkelblaue, resp. dunkelrothe Farbe von der nur schwach gefärbten Scheide stark ab. Auch Bismarckbraun, Methylenblau, Methylviolett färben die Glieder sehr schön; jedoch lassen diese letzteren die Scheiden nahezu farblos.

Mit der Gram'schen Methode werden diese Gliederzellen schön tingirt.

Sie haben vorwiegend eine längliche Gestalt und sind 2-, 3—4mal so lang als breit. Ihre Länge beträgt 3—8 μ und ihre Breite 1—2·5 μ. Die Enden sind mehr oder weniger stark abgerundet; nur wenn sie dicht gedrängt hintereinander liegen, drücken sie sich gegenseitig etwas flach ab; entgegengesetzten Falles kann man auch hin und wieder fast kugelige Glieder beobachten.

Der Abstand der einzelnen Glieder von einander wechselt ebenfalls sehr; bald liegen sie so nah aneinander, dass man nur noch bei Färbungen einen Zwischenraum bemerkt; bald kann der Abstand bis mehrere Mikra betragen.

Häufen sich in einer Scheide die Glieder an, d. h. hält die Vermehrung der Glieder eines Fadens nicht gleichen Schritt mit dem Längenwachsthum der Scheide, resp. stellt sich ihrer Ausdehnung ein Hinderniss entgegen, so können unter Verschmälerung ein oder mehrere Glieder gleichzeitig an den be-

Fig. 3. Deckglaspräparat, gefertigt aus einer acht Tage alten Bouilloncultur und gefärbt mit wässeriger Gentianaviolettlösung:

a) Pseudodichotomie; b) Glieder mit Sporen; c) aus dem Scheidenende hinausgedrängte Glieder.

nachbarten vorbeigleiten, so dass dann öfters zwei Zellen, mitunter von Keil-, Dreieck-, X-Form nebeneinander zu liegen kommen.

Eine der häufigsten Erscheinungen ist die sogenannte unechte Verzweigung, die von den Autoren als etwas der Cladothrix Eigenthümliches angesehen wird (siehe Fig. 3a). Sie entsteht dadurch, dass bei den oben angegebenen Verschiebungen eine Gliederzelle schief seitwärts gedrückt wurde und in dieser neuen Richtung sich zu theilen und auszuwachsen begann.

Echte Verzweigungen aus in normaler Lage befindlichen Gliederzellen kommen nicht vor.

Die Scheide kann ferner da und dort eine spindel- bis kugelförmige Auftreibung erleiden, welche ebenfalls infolge obiger Verschiebungen in grösserer Zahl neben- und durcheinander liegende Glieder enthalten.

Sehr häufig kommt es zu einer Zerreissung der Scheide; es findet dann eine Entleerung von Gliedern statt, die hier sofort zu neuen Fäden auswachsen; dabei bilden sie manchmal an der Austrittsstelle einen schönen, mehr oder weniger gleichmässigen Strahlenkranz (siehe Fig. 4a).

Die reifen, d. h. vollkommen entwickelten, ruhenden Gliederzellen sind oft mit einer centralen grossen oder mehreren kleineren Vacuolen versehen, die sich mit Pigmenten nicht färben und gegen das peripherische Protoplasma scharf abgesetzt sind. Die Vacuolen scheinen in einem gewissen Zusammenhang zu stehen mit der Gliederzellentheilung. Liegen nämlich zwei Vacuolen in einer Zelle und haben beide eine gewisse Grösse erreicht, so bemerkt man zwischen ihnen eine feine Querlamelle, welche sich schwach oder gar nicht färbt und eine Art von Scheidewand zwischen den beiden gebildeten Tochterzellen darzustellen scheint.

Die Länge der Fäden ist nach dieser Richtung von keinem Belange: man kann einerseits schon in ganz kurzen Fäden und in den ersten Gliedern deutlich Vacuolen, anderseits in sehr langen Fäden keine Vacuolen erkennen.

Einen Zellkern konnte ich niemals nachweisen.

Sporenbildung tritt häufig auf (siehe Fig. 3b). In diesem Falle sieht man in den Gliederzellen Vacuolen entstehen, die sich anfangs schwach färben, später aber vollständig ungefärbt bleiben. In einer Gliederzelle tritt stets nur eine Spore auf, u. zw. meist in der Mitte des Gliedes, seltener nach einem Ende liegend. Bei der Ausbildung der Spore zieht sich das Protoplasma der Zelle nach den beiden Enden zurück, es verdichtet sich, wie durch Färbung erkenntlich. Schliesslich hat sich jede Gliederzelle in eine ovale Spore umgewandelt, welche im Innern vacuolisirt, an der Peripherie, insbesondere aber an beiden Polen mit dichtem Protoplasma ausgestattet ist.

Die Sporenbildung kann schon sehr frühzeitig, manchmal schon in den ersten Gliedern eines auswachsenden Fadens auftreten: dies ist namentlich in jenen Fäden schön zu sehen, die aus frei gewordenen Gliederzellen sich entwickelten.

Wie bereits früher erwähnt, können vegetative Glieder eines Fadens aus dem Verbande frei werden, u. zw. dadurch, dass sie entweder an der Spitze oder seitlich aus der Scheide hinausgedrängt werden (siehe Fig. 3c). Diese bleiben, da sie bewegungslos sind, zu kleineren Haufen vereinigt am Entleerungsorte liegen und wachsen durch fortgesetzte Quertheilung zu neuen Fäden aus (Fig. 4a).

Ausser dieser Vermehrung durch vegetative, ruhende Zellen gibt es noch eine zweite durch Schwärmsporen. Die zu Sporen

Fig. 4. Deckglaspräparat, gefertigt aus einer fünftägigen Bouilloncultur und gefärbt auf Geisseln:
a) aus der Scheide frei gewordene und zu neuen Fäden auswachsende Glieder b) Schwärmsporen; c) stark vergrössert.

umgewandelten Zellen eines Fadens zeichnen sich nämlich dadurch aus, dass sie Geisseln besitzen (Fig. 4b; c stark vergrössert).

Die Geisseln treten selten einzeln, meist zu mehreren, manchmal bis zu acht an einem Schwärmer, u. zw. etwas seitlich, unterhalb des einen Poles auf. Alle entspringen aus einem Punkte dicht nebeneinander. Bei der Färbung verkleben übrigens öfter mehrere zu scheinbar einem dickeren Geisselfaden. Ihre Länge schwankt zwischen der 2—5fachen des Schwärmers; sie zeigen einen wellenförmigen oder geschlängelten Verlauf und sind nur sehr selten gerade und steif.

Die Bewegung, welche die Zoosporen mit Hilfe dieser Geisseln ausführen, ist manchmal ungewöhnlich rasch; sie erfolgt dadurch, dass die Zoospore sich um die eigene Axe dreht; die tanzend kreisende Bewegung hört plötzlich auf, um nach kürzerer oder längerer Zeit wieder zu beginnen.

An den betreffenden Präparaten liess sich nachweisen, dass die Zoosporen bereits innerhalb der Scheide begeisselt sind, und nicht, wie Zopf vermuthete, erst im Momente der Ablösung oder unmittelbar nachher die Geisseln erhalten (siehe Fig. 4b).

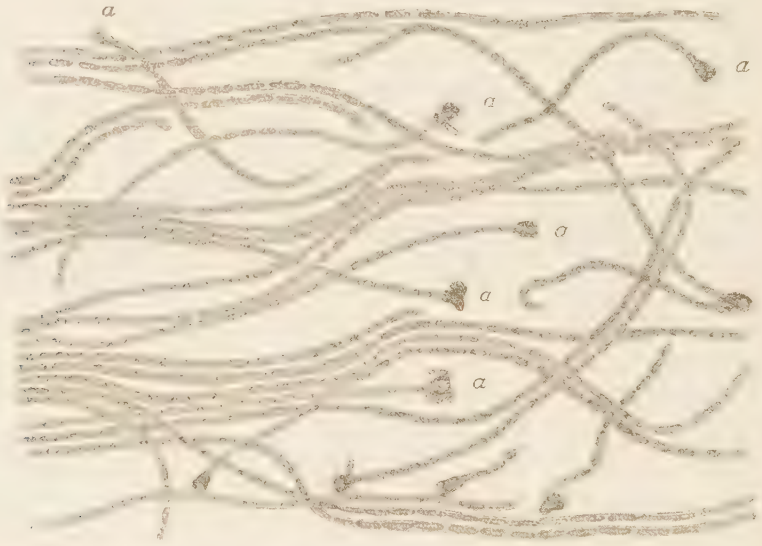

Fig. 3. Deckglaspräparat, gefertigt aus einer vierzehntägigen Bouilloncultur und gefärbt mit wässeriger Methylenblaulösung:
a) ausgekeimte Schwärmsporen.

Diese Zoosporen werden nun dadurch frei, dass sie selbständig die Scheiden verlassen, in welchem Falle dann die entleerten Scheiden zurückbleiben.

Nach Entweichung aus der Scheide bewegen sich die Schwärmer einige Zeit, schliesslich setzen sie sich nach Einziehung der Wimpern irgendwo fest (mittels einer schleimigen Masse) und keimen sofort zu neuen Fäden aus.

Die Auskeimung geht in der Weise vor sich, dass die nunmehr festsitzenden Zoosporen in der Regel bedeutend an Umfang (manchmal bis zum 2–4fachen) zunehmen. Dabei macht sich ein kräftiger protoplasmatischer Wandbelag der Schwärmspore unter

Vergrösserung der Vacuole bemerkbar. Das Austreten des Keimschlauches erfolgt an einem Pole (siehe Fig. 5a).

Aus jeder Zoospore kommt stets nur ein Keimschlauch, nie zwei oder mehrere. Der Keimschlauch ist gewöhnlich dünner als die Spore und zeigt schon sehr frühzeitig eine Gliederung.

Die Vermehrung und Ausbreitung der Cladothrix dichotoma geht also auf zweierlei Weise vor sich: erstens durch vegetative Vermehrung einzelner frei gewordener Glieder (Gonidien), und zweitens durch Schwärmsporen. Die ersteren ertragen das Austrocknen nicht, während letztere dagegen widerstandsfähig sind.

Im Entwicklungsgang der Cladothrix dichotoma Cohn lassen sich also folgende Momente festhalten:

1. Sie bildet festsitzende Fäden und Rasen, die aus stabförmigen, ovalen oder länglichen, hintereinander liegenden Gliedern und einer sie umschliessenden Scheide bestehen.

2. Die Fäden sind niemals echt verzweigt; dagegen kommen nicht selten Scheinverzweigungen, wie oben angegeben, vor.

3. Es treten ausschliesslich Lang- und Kurzstäbchen, aber keine Spirillen und keine Kokken auf.

4. Die Vermehrung geschieht durch Zoosporen und durch unbewegliche Gonidien.

Es ergibt sich somit aus meinen Untersuchungen, dass ein Theil der Zopf'schen Beobachtungen über diesen Fadenspaltpilz durch Reinculturen nicht bestätigt werden konnte.

Die Untersuchungen zu dieser Arbeit wurden im Botanischen Institut der kgl. Technischen Hochschule in München angestellt. Dem Leiter dieses Instituts, Herrn Prof. Dr. C. O. Harz, fühle ich mich für die freundliche Unterstützung, die er mir stets gewährte, und den umsichtigen Rath, mit dem er mir zur Seite stand, zu tiefstem Dank verpflichtet.

Druck von Johann N. Vernay Wien, IX. Mariannengasse 17.

Lebenslauf.

Ich, Carl Höflich, bin geboren am 27. Januar 1864 zu Aschaffenburg a. M. als Sohn des Privatiers Adam Höflich und seiner Gattin Barbara geborene Göbel, katholischer Religion, besuchte in München die Volksschule und das Königliche Ludwigsgymnasium und trat im Jahre 1883 als ordentlicher Studirender in die Königliche Thierärztliche Hochschule in München ein. Anfang des Sommersemesters 1885 machte ich das Tentamen physicum und legte am Ende des Wintersemesters 1887 die Thierärztliche Approbationsprüfung ab.

Am 1. Juni 1887 erfolgte meine Ernennung zum Assistenten der pathologischen Abtheilung und Seuchenversuchsstation an der Königlich Thierärztlichen Hochschule in München, welche Stellung ich bis zum 1. Juli 1898 behielt. Von da ab arbeitete ich im Botanischen Laboratorium der Königlich Technischen Hochschule bei Herrn Professor Dr. C. O. Harz.

Im Jahre 1890/91 und 1891/92, also 4 Semester, war ich an der Königlichen Universität München immatrikulirt und frequentirte die Vorlesungen über Zoologie und vergleichende Anatomie von Herrn Professor Dr. Hertwig, über allgemeine Botanik von Herrn Professor Dr. Göbel und über spezielle Botanik von Herrn Professor Dr. Radlkofer, während ich bereits im Jahre 1883/84 an der Königlich Technischen Hochschule schon Vorlesungen über Chemie von Herrn Professor Dr. von Miller und über Physik von Herrn Professor Dr. von Beetz gehört hatte.

Im Studienjahre 1899/1900 bezog ich die Universität Freiburg in der Schweiz und hörte Vorlesungen über Botanik von Herrn Professor Dr. Westermaier und über Zoologie und vergleichende Anatomie von Herrn Professor Dr. Kathariner.

Bisher veröffentlichte ich folgende wissenschaftliche Arbeiten:

1. „Die Gram'sche Färbung und ihre Anwendung in der Thierärztlichen Praxis." Monatshefte für praktische Thierheilkunde, Bd. II, S. 97.
2. „Die Pyelonephritis bacillosa des Rindes." Ebenda Bd. II, S. 337.
3. „Ueber Malleïnimpfungen." Ebenda Bd. III, S. 542 und Bd. IV, S. 36.
4. „Ein Fall von Glossitis chronica sarcosporidica bei einem Pferde." Jahresbericht der Königlich Thierärztlichen Hochschule München 1896/97 S. 75.
5. „Beitrag zur Bekämpfung der Schweinepest mittelst Blutserum pestkrank gewesener Schweine." Wochenschrift für Thierheilkunde und Viehzucht, Jahrgang XLII, S. 133.
6. Verschiedene Referate.